Aus dem Institut für Klinische Chemie und Biochemie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. Hans-Joachim Dulce

Vergleich von klinisch-chemischen Analysen in Lithiumheparinatplasma und Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Annegret Diab geb. Stender
geb. in Berlinchen/Neumark

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0117

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Biochemie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. Hans-Joachim Dulce

Vergleich von klinisch-chemischen Analysen in Lithiumheparinatplasma und Serum

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Annegret Diab geb. Stender

geb. in Berlinchen/Neumark

Referent: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Dulce
Korreferent: Prof. Dr. med. Theodor Günther

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23. März 1973

Gliederung

		Seite
1.	Einleitung	5
2.	Versuchsanordnung	8
2.1	Ermittlung der zur Ungerinnbarkeit des Blutes notwendigen Menge an Lithiumheparinat	8
2.2	Abhängigkeit der Laboratoriumsmeßwerte von der Lithiumheparinatkonzentration	8
2.3	Vergleich von Lithiumheparinatplasma- und Serumanalysen bei mehreren Patienten	8
3.	Methoden	10
3.1	Enzymbestimmungen	10
3.1.1	Alkalische Phosphatase	10
3.1.2	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	11
3.1.3	Glutamat-Pyruvat-Transaminase	11
3.1.4	α-Hydroxybuttersäuredehydrogenase	12
3.1.5	Creatin-Phosphokinase	12
3.1.6	α-Amylase	13
3.1.7	Saure Phosphatase	14
3.2	Bestimmung des Harnstoffs, des Kreatinins und der Harnsäure	15
3.2.1	Harnstoff	15
3.2.2	Kreatinin	16
3.2.3	Harnsäure	17
3.3	Bilirubin	17
3.3.1	Gesamtbilirubin	17
3.3.2	Direktes Bilirubin	18
3.4.	Mineralbestimmungen	18
3.4.1	Anorganisches Phosphat	18
3.4.2	Calcium und Magnesium	19

3.5	Elektrolytbestimmungen	20
3.5.1	Chlorid	20
3.5.2	Kalium und Natrium	20
3.6	Triglyceride und Cholesterin	21
3.6.1	Triglyceride	21
3.6.2	Cholesterin	22
3.7	Gesamtprotein und Elektrophorese	23
3.7.1	Gesamtprotein	23
3.7.2	Elektrophorese	24
3.8	Statistischer Vergleich der Meßwerte	25
3.8.1	Berechnung des Mittelwertes	25
3.8.2	Berechnung der Varianz und der Standardabweichung	25
3.8.3	Prüfung der Nullhypothese	26
4.	Ergebnisse	27
4.1	Varianzprüfung	27
4.2	Die optimale Menge an Lithium-heparinat	28
4.3	Versuchsergebnisse in Abhängigkeit von der Konzentration an Lithium-heparinat (0,25-5,0mg/5ml Blut)	28
4.4	Vergleich der Meßwerte in Lithium-heparinatplasma und Serum	29
5.	Diskussion	34
6.	Zusammenfassung	36
	Tabellen	38-54
	Literaturverzeichnis	55

1. Einleitung

Für klinisch-chemische Analysen wurde bisher, mit Ausnahme des Blutzuckers, der Gerinnungsteste und der Blutgasanalyse, Blutserum benutzt. Blutplasma hat jedoch einige Vorteile gegenüber dem Serum, so daß zu überlegen ist, ob nicht in Zukunft besser Plasma verwendet wird.

Folgende Argumente sprechen für die Verwendung von Plasma an Stelle von Serum für klinisch-chemische Analysen:
Ungerinnbares Blut kann sofort zentrifugiert werden, es muß nicht ca. 20 Min. abgewartet werden, bis die Gerinnung eintritt.
Eine Nachgerinnung entfällt nach Zusatz von Antikoagulantien, so daß keine Fibrinfäden auftreten, die das Arbeiten erschweren.
Die Hämolyse, die bei der Gerinnung und dem Transport häufig auftritt, ist nach Zusatz von Antikoagulantien seltener.

Gerade die Hämolyse ist eine wesentliche Fehlerquelle: Es kommt zum Übertritt von Stoffen, die in den Erythrocyten in höherer Konzentration vorhanden sind als im Plasma, und die Resultate werden falsch. Hierzu rechnen das Kalium und Enzyme wie die Lactat-Dehydrogenase, Saure Phosphatase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und die α-Hydroxy-Buttersäuredehydrogenase, aber auch das Hämoglobin.
Da der molare Extinktionskoeffizient des Hämoglobins bei der Wellenlänge 405 nm um 130 000 cm^2/Mol beträgt, gibt es bei einer Hämolyse immer noch, trotz starker Verdünnung, eine beträchtliche Extinktion im Bereich zwischen 300-600 nm. Das Hämoglobin kann auch chemische Reaktionen beeinflussen, wie z.B. die Diazotierung bei

der Bilirubin-Bestimmung.

Um bei dem abgenommenen Venenblut die Gerinnung zu verhindern, werden verschiedene Antikoagulantien verwendet. Oxalat, als Lithium-, Natrium- oder Kaliumsalz, setzt durch seine Calcium-Bindung die Gerinnungsfähigkeit des Blutes herab. Da Alkalioxalate den pH des Blutes ändern, sind Blutgasanalysen mit Oxalatblut nicht möglich. Elektrolytbestimmungen sind wegen der zu hohen Alkalimenge nicht durchführbar. Auch die Calcium-Werte können beeinflußt werden. Die Calcium-abhängigen Enzyme, wie z.B. die Alkalische Phosphatase, können in ihren Aktivitäten gehemmt werden.
Alkalicitrat wirkt im wesentlichen wie Alkalioxalat und hat dieselben Nachteile. Man verwendet es ausschließlich für Gerinnungsanalysen.
Natriumfluorid wirkt gerinnungshemmend ebenfalls durch Calciumentzug. Es hemmt außerdem die Glykolyse in den Erythrocyten und andere Enzyme. Fluorid kann deshalb nur als Antikoagulans bei der Blutzuckerbestimmung benutzt werden.
Alkalisalze der Äthylendiamintetraessigsäure, die eine Komplexbindung mit dem Calcium und anderen mehrwertigen Metallen eingehen, werden dem Blut für die Zellzählung zugesetzt. ÄDTE-Salze hemmen die meisten metallabhängigen Enzymreaktionen. Sie scheiden deshalb als allgemein verwendbare Antikoagulantien aus.

Heparin wird als Antikoagulans für Blutgasanalysen eingesetzt. In der Regel ist es Natriumheparinat, das durchaus auch als Antikoagulanszusatz für andere klinisch-chemische Analysen in Frage kommt, mit Ausnahme der Elektrolytbestimmungen, der Glucose und der Gerinnungsanalysen.
Heparin verhindert die Blutgerinnung durch Hemmung der Thrombinbildung und damit der Fibrinogenumwandlung.

Es ist ein rechtsdrehendes Polysaccharid aus der Gruppe der sauren Mucopolysaccharide und besteht aus Glucuronsäure, Glucosamin (verknüpft durch 1-4-Bindung) und Sulfatresten. Der Gehalt an Sulfatresten kann bis zu 4-5 pro Tetrasaccharideinheit betragen. Sie sind teils an Alkohol-, teils an Aminogruppen gebunden. Das Molekulargewicht von Heparin liegt zwischen 10 000 - 20 000.

Um die Störung der Elektrolytanalyse durch Natriumheparinat zu umgehen, wird vielfach Lithiumheparinat, dem man allerdings einen Einfluß auf Phosphataseaktivitäten nachsagt, als Antikoagulans empfohlen. Lithiumheparinat dürfte die Natriumbestimmung nicht unmittelbar verfälschen. Sein Einsatz als Antikoagulans für klinisch-chemische Untersuchungen des Blutes erscheint dann sinnvoll, wenn das Verhalten aller routinemäßigen Laborwerte nach Analyse von Lithiumheparinatplasma neben Serum bekannt ist.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, Laborwerte aus Lithiumheparinatplasma und Serum derselben Patienten zu vergleichen, um mögliche Beeinflussungen im Serum gemessener Normalwerte zu erkennen.
Zunächst wurde überprüft, wieviel mg Lithiumheparinat erforderlich sind, um 5 ml Blut ungerinnbar zu machen. Dann untersuchten wir den Einfluß verschiedener Konzentrationen von Lithiumheparinat auf die häufigsten Labormeßwerte im Vergleich zu Meßwerten aus Serum. Schließlich prüften wir den Einfluß einer optimalen Lithiumheparinat-Konzentration auf die Meßwerte durch Reihenuntersuchungen von Blut verschiedener Patienten.

2. Versuchsanordnung

2.1 Ermittlung der zur Ungerinnbarkeit des Blutes notwendigen Menge an Lithiumheparinat

5 mg Lithiumheparinat wurden in 5 ml Wasser gelöst, 0,1 ml; 0,15 ml; 0,2 ml; 0,25 ml; 0,3 ml; 0,4 ml und 0,5 ml dieser Lösung in Blutentnahmeröhrchen einpipettiert und 5 ml Blut in jedes Röhrchen eingegeben. Nach eins, drei und sechs Stunden wurden die Röhrchen auf Gerinnung und Nachgerinnung geprüft, indem beim Kippen der Röhrchen beobachtet wurde, ob der Blutkuchen noch beweglich ist. Es wurde außerdem mittels eines Glasstabes geprüft, ob in der überstehenden Flüssigkeit Fibrinhäutchen zu finden waren.

2.2 Abhängigkeit der Laboratoriumsmeßwerte von der Lithiumheparinat-Konzentration

In der zweiten Versuchsreihe wurden in Blutentnahmeröhrchen 0,25 mg; 0,5 mg; 1,0 mg; 2,5 mg oder 5,0 mg Lithiumheparinat eingewogen und jedem Röhrchen 5 ml frisches Blut desselben Patienten zugesetzt. Als Vergleich diente Serum desselben Patienten.

2.3 Vergleich von Lithiumheparinatplasma-und Serumanalysen bei mehreren Patienten

In einer dritten Versuchsreihe wurden je 5 ml Blut 3 verschiedener Patienten mit 0,3 mg Lithiumheparinat vermischt und als Vergleichswerte die Seren derselben Personen untersucht. Wir führten in jeder Reihe 10 Messungen durch.
Das Blut wurde bei allen drei Versuchsreihen nach

30 Minuten langem Stehen zentrifugiert (3000 Umdr./10 Min.) und mit Heglostix auf Hämolyse geprüft. Die Überstände wurden für die Bestimmungen verwendet.

Wir führten folgende Bestimmungen durch:
Alkalische Phosphatase
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
Glutamat-Pyruvat-Transaminase
α-Hydroxy-Buttersäuredehydrogenase
Creatin-Phosphokinase
α-Amylase
Harnstoff
Kreatinin
Harnsäure
Gesamtbilirubin
Direktes Bilirubin
Anorganisches Phosphat
Calcium und Magnesium
Chlorid
Kalium und Natrium
Triglyceride
Cholesterin

Für die Untersuchung des Proteins und der Elektrophorese in Lithiumheparinatplasma wurde dem Plasma 10 mg Protaminsulfat zugesetzt, um das Heparin auszufällen. Nach Eintreten der Gerinnung zentrifugierten wir 10 Minuten und verwendeten den Überstand.
Für die Bestimmung der Sauren Phosphatase wurde Serum mit kristallisierter Saurer Phosphatase angereichert, um grössere Photometerausschläge zu erhalten. 5 mg Saure Phosphatase (Reinheitsgrad II) lösten wir in 30 ml eines Mischserums. Diese Lösung wurde mit 0,9 %iger NaCl-Lösung im Verhältnis 1:9 verdünnt. Die Verdünnung benutzten wir als Stammlösung.

Stammlösung		0,9 %ige NaCl-Lösung
1 ml	:	4 ml
1,3 ml	:	3,7 ml
1,5 ml	:	3,5 ml

Um den Einfluß von Lithiumheparinat auf die Aktivität der Sauren Phosphatase zu bestimmen, wurden die oben genannten Verdünnungen vor und nach Zusatz von 0,3 mg Lithiumheparinat gemessen.

Bestimmungen, deren in Lithiumheparinatplasma gemessene Werte sich von den Serumwerten signifikant unterschieden, wurden mit Ammoniumheparinatplasma wiederholt. Dazu wurden Monovetten benutzt, die 75 Einheiten Ammoniumheparinat enthielten. Als Vergleichswerte wurden die Seren derselben Patienten untersucht. Wir führten in jeder Reihe 10 Messungen durch.

3. Methoden

3.1 Enzymbestimmungen

3.1.1 Alkalische Phosphatase

Reagenzien

Puffer-Substratlösung:

Diäthanolamin-HCl-Puffer pH 9,8	1,0	Mol/l
$MgCl_2$	$5x10^{-4}$	Mol/l
p-Nitrophenylphosphat	$1,5x10^{-2}$	Mol/l

Der Ansatz erfolgt direkt in der 1-cm-OS-Küvette eines Photometers, die auf 25 ° C temperiert ist.

Man pipettiert ein:

Puffersubstratlösung	2,0 ml
Serum oder Plasma	0,02 ml

Gut mischen, 1 min. abwarten und jede Minute 5 min. lang die Extinktionen bei 405 nm gegen Luft als Leerwert ablesen. Den Mittelwert aller Δ E/min. bilden.
Berechnung: Δ E/min. x 5460 = U/l

3.1.2 Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Reagenzien

Puffer-Aspartat-Lösung:		
Phosphatpuffer pH 7,4	0,1	Mol/l
l-Aspartat	0,04	Mol/l
$NADH_2$-Lösung	0,012	Mol/l
Enzymlösung	0,25	mg MDH/ml
	0,25	mg LDH/ml
α-Ketoglutaratlösung	0,25	Mol/l

Aus 30 ml Puffer-Aspartat-Lösung, 0,5 ml $NADH_2$-Lösung und 0,5 ml Enzymlösung wird eine Mischung hergestellt. In auf 25 ° C temperierte 1-cm-Küvetten pipettieren:

Puffer-Aspartat,	
$NADH_2$-Enzymgemisch	2,5 ml
Plasma oder Serum	0,5 ml

mischen und 5 min. bei 25 ° C stehen lassen

α-Ketoglutarat-Lösung	0,1 ml

mischen, alle Minute 5 min. lang die Extinktionen bei 366 nm messen. Den Mittelwert aller Δ E/min. bilden.
Berechnung: Δ E/min. x 1880 = U/l

3.1.3 Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Reagenzien

Puffer-Alanin-Lösung:		
Phosphatpuffergemisch pH 7,4	0,1	Mol/l
DL-Alanin	0,08	Mol/l
$NADH_2$-Lösung	0,012	Mol/l
LDH-Lösung	0,25	mg/ml
α-Ketoglutaratlösung	0,25	Mol/l

Ausführung:
Aus 30 ml Puffer-Alanin-Lösung, 0,5 ml $NADH_2$-Lösung und 0,5 ml LDH-Lösung stellen wir ein Gemisch her.
In die 1-cm-Küvette werden pipettiert:

Puffer-Alanin,		
$NADH_2$-LDH-Gemisch	2,5	ml
Plasma oder Serum	0,5	ml

mischen, 5 min. bei 25 ° C stehen lassen.

α-Ketoglutaratlösung	0,1	ml

mischen, jede Minute, 5 min. lang die Extinktionen bei 366 nm ablesen.
Die Messung erfolgt gegen Luft als Leerwert. Man bildet den Mittelwert aller ΔE/min.
Berechnung: ΔE/min. x 1880 = U/l

3.1.4 α-Hydroxybuttersäuredehydrogenase

Reagenzien

Phosphatpuffer-Lösung pH 7,4	0,05	Mol/l
$NADH_2$-Lösung	0,004	Mol/l
α-Ketobutyratlösung	0,1	Mol/l

Ausführung:
Aus 25 ml der Phosphatpufferlösung und 1 ml der $NADH_2$-Lösung wird eine Mischung hergestellt.

Phosphatpuffer-$NADH_2$-Lösung	2,5	ml
Plasma oder Serum	0,05	ml

mischen, 10 min. bei 25 ° C stehen lassen.

α-Ketobutyratlösung	0,1	ml

gut mischen. Die Extinktion bei 366 nm ablesen, 5 min. lang jede Minute die Ablesung wiederholen. Den Mittelwert aller ΔE/min. bilden.
Berechnung: ΔE/min. x 16 000 = U/l

3.1.5 Creatin-Phosphokinase

Reagenzien
Puffer-Substrat-Lösung:

Triäthanolamin pH 7,0	0,11	Mol/l

Glukose	22	mMol/l
Mg-Acetat	11	mMol/l
ADP	1,1	mMol/l
AMP	11	mMol/l
NADP	0,65	mMol/l
Creatinphosphat	38	mMol/l
Enzymgemisch:		
Hexokinase	1	mg/ml
Glukose-6-Phosphat-dehydrogenase	1	mg/ml
Aktivatorlösung:		
Glutathion	0,25	mMol/l

Ausführung:

In eine 1-cm-Küvette, die auf 25 ° C temperiert ist, wurde pipettiert:

Puffersubstratlösung	2,5	ml
Enzymgemisch	0,02	ml
Aktivatorlösung	0,1	ml
Plasma oder Serum	0,1	ml

Nach dem Mischen 5 min. stehen lassen, dann bei 366 nm jede Minute 5 Minuten lang den Extinktionsanstieg gegen Luft als Leerwert am Photometer ablesen. Den Mittelwert aller ΔE/min. errechnen.

Berechnung: Δ E/min. x 8242 = U/l

3.1.6 α-Amylase

Reagenzien

Puffer-Substrat-Lösung pH 7,1

Amylose	0,2	g/l
NaCl	15	mMol/l
Phosphatpuffer pH 7,1	20	mMol/l

Jodreagenz

0,008n J_2-Lösung (KJ, KJO_3, HCl)

Ausführung:

Der Ansatz erfolgt in Reagenzgläsern.

	Analyse	Leerwert
ml Puffersubstrat-Lösung	1,0	1,0

5 min. inkubieren bei 25° C

ml Plasma oder Serum	0,01	

15 min. bei 25° C inkubieren.

ml aq. dest.	10,0	10,0
ml Jod-Reagenz	0,5	0,5

Die Messung erfolgt bei 623 nm in einer 1-cm-Küvette gegen aq. dest.

Berechnung: $\frac{E_L - E_A}{E_L} \times 570 = U/l$

3.1.7 Saure Phosphatase

Reagenzien

Puffersubstratlösung pH 4,8

Citratpuffer pH 4,8	50	mMol/l
Natrium-p-nitro-phenylphosphat	5,5	mMol/l
Natronlauge	ca. 0,02	n

In Eppendorfgefäße werden pipettiert:

	Analyse	Leerwert
ml Puffersubstratlösung	0,2	0,2
ml Serum angereichert mit kristallisierter Saurer Phosphatase	0,05	-

gut mischen, 30 min. bei 37° C inkubieren lassen

ml Natronlauge 0,02n	1,0	1,0
ml Serum angereichert mit kristallisierter Saurer Phosphatase		0,05

wieder gut mischen. Gemessen wird in 1-cm-Küvetten eines Photometers bei 405 nm. Die Messung erfolgt gegen Leerwert.

Berechnung:

$\Delta E \times 45,4 = U/l$

3.2 Bestimmung des Harnstoffes, des Kreatinins und der Harnsäure

3.2.1 Harnstoff

Lösungen

NaCl-Lösung 0,9 % + 0,5 ml Brij/l

Farbreagenz

Diacetylmonoxim	25	g/l
Thiosemicarbacid	5	g/l

67 ml Diacetylmonoxim + 67 ml Thiosemicarbacid + 0,5 ml Brij

auffüllen mit aq. dest. ad 1000.0

Säure-Reagenz

Lösung A		
$FeCl_3$ x 6 H_2O	15	g
H_3PO_4 (85 %)	300	ml
aq. dest. ad	450	ml
Lösung B		
H_2SO_4 ca. 20 %ig		
Lösung A	1	ml
Lösung B	1000	ml

Harnstoff-Stammlösung

Harnstoff	10	g
0,01n H_2SO_4 ad	1000	ml

Eichlösungen:

0,1 g/l; 0,3 g/l; 0,6 g/l; 1,0 g/l; 1,5 g/l; 2,5 g/l Harnstoff. Die Eichlösungen werden aus der Stammlösung hergestellt, die mit 0,01n H_2SO_4 verdünnt wird.

Ausführung:

Es wurde mit dem Autoanalyzer der Fa. Technicon gearbeitet. Das unverdünnte Plasma oder Serum wird in einem Dialysator bei 37° C enteiweißt und mit Diacetylmonoxim und Thiosemicarbacid vermischt.

Die Mischung wird im Ölbad auf 95° C erhitzt.

Das farbige Reaktionsprodukt wird im Photometer, Wellenlänge 520 nm, in einer 15-mm-Durchflußküvette gemessen

und die Extinktionen auf einem Extinktionsschreiber abgelesen.

Berechnung: Die Eichmeßwerte werden graphisch aufgetragen. Aus der Eichkurve werden die Harnstoffwerte in g/l ermittelt.

3.2.2 Kreatinin

Lösungen

0,02n Salzsäure

0,5n Natronlauge

Brij -Lösung

NaCl-Lösung 0,9 %ig

alkalische Pikratlösung:

Pikrinsäurelösung 1,2 %ig	200	ml
Natronlauge 0,5n	300	ml

Kreatinin-Stammlösung:

Kreatinin	1,0	g
1n Salzsäure	100	ml
aq.dest.	ad 1000	ml

Eichlösungen:

5 mg/l; 15 mg/l; 30 mg/l; 60 mg/l; 100 mg/l; 150 mg/l Kreatinin. Die Eichlösungen wurden aus der Stammlösung hergestellt, die mit 0,02n Salzsäure verdünnt wird.

Ausführung:

Das Plasma oder Serum wird unverdünnt verwendet. Die Bestimmung wurde mit einem Autoanalyzer der Fa. Technicon durchgeführt. Das Plasma oder Serum wurde bei 37° C in einem Dialysator enteiweißt, mit der alkalischen Pikratlösung vermischt und photometrisch bestimmt bei 505 nm in einer 15-mm-Durchflußküvette. Die Extinktionen werden an einem Extinktionsschreiber abgelesen.

Berechnung: Die Eichmeßwerte werden graphisch aufgetragen. Aus der Eichkurve werden die Kreatininwerte in mg/l ermittelt.

3.2.3 Harnsäure

Reagenzien

Na-Borat-Puffer pH 9,5	0,2	Mol/l
Uricase	2	mg/ml

Ausführung:

in 1-cm-OS-Küvetten werden pipettiert:

ml Pufferlösung	3,00
ml Plasma oder Serum	0,05

gut mischen, die Extinktion ablesen (E_1). Anschließend hinzugeben

ml Uricaselösung	0,02

wieder gut mischen, nach 10 min. die Extinktion ablesen (E_2).

Gemessen wird mit einem Spektralphotometer bei 293 nm. Die Messung erfolgt gegen Luft als Leerwert bei Raumtemperatur.

Berechnung: $E_1 - E_2 = E$

$\Delta E \times 819 = mg/l$

3.3 Bilirubin

3.3.1 Gesamtbilirubin

Reagenzien

Sulfanilsäurelösung	0,029	Mol/l
0,17n HCl		
Natriumnitritlösung	0,072	Mol/l
Coffein-Natriumbenzoat-Lösung	0,077	Mol/l
Fehling II: Natrium-Kaliumtartrat	0,93	Mol/l
1,9n Natronlauge		

Ausführung:

	Analyse	Leerwert
ml Sulfanilsäure/HCl	0,25	0,25
Tropf. $NaNO_2$-Lösung	1	-
ml Coffein-Benzoat-Lösung	1,0	1,0
ml Plasma oder Serum	0,25	0,25

mischen, 10 min. bei Raumtemperatur stehen lassen.
ml Fehling II-Lösung 1,0 1,0
mischen, nach 5 min. in 1-cm-Küvetten die Extinktion der Analyse gegen den Leerwert bei 578 nm messen.
Berechnung: E x 90 = mg/l

3.3.2 Direktes Bilirubin

Reagenzien

Sulfanilsäurelösung	0,029	Mol/l
0,17n HCl		
Natriumnitritlösung	0,072	Mol/l
Fehling II: Natrium-Kaliumtartrat	0,93	Mol/l
1,9n Natronlauge		
Natriumchloridlösung	9	g/l

Ausführung:

	Analyse	Leerwert
ml Sulfanilsäure/HCl	0,25	0,25
Tropf. $NaNO_2$-Lösung	1	-
ml NaCl-Lösung	1,0	1,0
ml Plasma oder Serum	0,25	0,25
ml Fehling-II-Lösung	1,0	1,0

mischen, nach 5 min.in 1-cm-Küvetten die Extinktion der Analyse gegen den Leerwert bei 578 nm messen.
Berechnung: E x 90 = mg/l

3.4 Mineralbestimmungen

3.4.1 Anorganisches Phosphat

Reagenzien

Schwefelsäure 10n

Ammoniummolybdatlösung 25 g/l

Reduktionsreagenz:

2,5 g Amino-2-naphthol-4-sulfonsäure in 975 ml $NaHSO_3$-Lösung (150 g/l) lösen und mit 25 ml Na_2SO_3-Lösung (200 g/l) auffüllen.

PO_4-Standardlösung 2 mMol/l
27,2 mg KH_2PO_4 + 5 ml 1n H_2SO_4 auf 100 ml mit aq. dest. lösen.
Trichloressigsäure 200 g/l

Ausführung:
1,0 ml Plasma oder Serum mit 1,0 ml Trichloressigsäure versetzen und 10 min. bei 3000 Umdrehungen/min. zentrifugieren. Vom enteiweißten Überstand 0,2 ml zur Untersuchung verwenden.

	Analyse	Standard	Leerwert
ml Überstand	0,2	-	-
ml Standardlösung	-	0,1	-
ml aq.tridest.	-	-	0,1
ml H_2SO_4	0,05	0,05	0,05
ml Molybdatlösung	0,1	0,1	0,1
ml Reduktionslösung	0,05	0,05	0,05
ml aq.dest.	600	700	700

mischen, 30 min. bei Raumtemperatur stehen lassen. In 1-cm-Halbmikroküvetten bei 578 nm, Spaltbreite 2,5 x 12 mm, Standard, Analyse und Leerwert gegen aq. dest. messen.
Berechnung:

$$\frac{E_A - E_L}{E_S - E_L} \times 30 : 30{,}975 = \text{mMol/l}$$

E_A = Extinktion der Analyse
E_S = Extinktion des Standards
E_L = Extinktion des Leerwertes

3.4.2 Calcium und Magnesium
Für die Messung wurde das Atom-Absorptions-Spektralphotometer der Fa. Unicam benutzt. Das Gerät arbeitet mit Acetylengas. Das Plasma oder Serum wurde mit 1,04 %iger La_2O_3-Lösung 1:25 verdünnt (0,1 ml Plasma oder Serum + 2,4 ml La_2O_3-Lösung). Die Verdünnung erfolgt mit der

Dilumatik.
Das Calcium wurde bei der Wellenlänge 420 nm, Spaltbreite 0,08 mm gemessen und die abgelesenen Werte mit 10 multipliziert, um die Konzentration in mMol/l zu erhalten. Die Magnesium-Messung wurde bei 283 nm, Spaltbreite 0,05 mm durchgeführt. Die abgelesenen Werte ergaben mit 10 multipliziert mMol Magnesium/l.

3.5 Elektrolytbestimmungen

3.5.1 Chlorid

Reagenzien

Salpetersäure-Eisessigreagenz

900 ml aq.bidest. + 6,4 ml konzentrierte HNO_3 + 100 ml Eisessig.

Gelatinereagenz

6,2 g Gelatine in heißem aq.bidest. lösen und auf 1000 ml auffüllen.

Standardlösung

100 mMol NaCl/l
(5,844 g NaCl p.A. in 1000 ml aq.bidest. lösen).

Ausführung:
Es wurde die amperometrische Titration durchgeführt und mit dem Cl-Titrator der Fa. Aminco gearbeitet. Die Titrationsgefäße wurden wie folgt beschickt:

	Analyse	Standard	Leerwert
ml HNO_3-Eisessig	4,0	4,0	4,0
ml Standard-Lösung	-	0,1	-
ml Plasma oder Serum	0,1	-	-
ml Gelatine-Lösung	0,2	0,2	0,2

Nach vorheriger Eichung des Gerätes mit einer Standardlösung (100 mMol/l) können die Chloridwerte direkt am Anzeigegerät in mMol/l abgelesen werden

3.5.2 Kalium und Natrium

Für die Bestimmung des Kaliums und Natriums wurde das

Il-Flammenphotometer Modell 143 und der Il-Dilutor Modell 144 der Fa. Instrumentation Laboratory Inc. benutzt. Natrium und Kalium werden in einem Arbeitsgang bestimmt. Das unverdünnte Serum oder Plasma wird in der Mischkammer des Gerätes mit einem Lithium-Standard (3000 m Äq/l) vermischt und 200-fach mit destilliertem Wasser verdünnt. Natrium wird bei 589 nm gemessen, Kalium bei 771 nm. Die Kalium- und Natriumwerte werden gleichzeitig auf dem Konzentrationsanzeiger in mMol/l abgelesen.

3.6 Triglyceride und Cholesterin

3.6.1 Triglyceride

Reagenzien

Triäthanolamin- Mg SO_4 - Pufferlösung pH 7,6

Triäthanolaminpuffer	0,1 Mol/l
$MgSO_4$	4 mMol/l

NADH, ATP und Phosphoenolpyruvat (wie unter Testgemisch angegeben) einwiegen

Enzymgemisch

Lactatdehydrogenase	2 mg/ml
Pyruvatkinase	1 mg/ml

Glyzerokinaselösung 2 mg/ml

Äthanolische KOH ca. 0,45n :

22 g KOH ad 100,0 mit dest. Wasser lösen (ca. 4n KOH). Daraus wird 0,45n KOH hergestellt, indem man 11 ml 4n KOH ad 100 ml Äthanol auffüllt.

Magnesium-Sulfat-Lösung 0,2 Mol/l

4,93 g $MgSO_4 \times 7\ H_2O$ ad 100 ml mit aq. bidest. lösen.

Herstellung des Testgemisches:

Triäthanol-$MgSO_4$-Pufferlösung pH 7,6	200 ml
ATP	140 mg
Phosphoenolpyruvat	20 mg
NADH	46 mg
Enzymgemisch	0,15 ml

In Eppendorfgefäße werden pipettiert:

	Analyse	Leerwert
ml Serum oder Plasma	0,1	-
ml aq. tridest.	-	0,1
ml äthanolische KOH	0,25	0,25

Gefäße verschließen, mischen, 30 min. bei 60 ^{o} C im Wasserbad inkubieren, abkühlen. Zu jedem Ansatz 0,4 ml $MgSO_4$-Lösung hinzugeben, mischen, 2 min. bei 10.000 Umdrehungen zentrifugieren. 0,5 ml des Überstandes mit 3,4 ml des Testgemisches verdünnen (Dilumatik). Mischen, 2 ml des Gemisches in ein zweites Röhrchen gießen. In das zweite Röhrchen wird 0,01 ml Glycerokinaselösung gegeben. Eine Stunde bei 37 ^{o} C inkubieren. Anschließend im Photometer, 1-cm-Küvetten, bei 366 nm gegen den Leerwert messen.

Berechnung:

$(E_1 - E_2) \times 15{,}8$ = g/l Neutralfett

E_1 = Extinktion der Probe ohne Glycerokinase

E_2 = Extinktion der Probe mit Glycerokinase.

3.6.2 Cholesterin

Reagenzien

Essigsäureanhydrid

Essigsäure 96 %ig

Schwefelsäure 95-97 %ig

Toluolsulfonsäure

Cholesterinsubstanz 3 x rekrist. aus Äthanol

In einen Erlenmeyerkolben gibt man

Essigsäureanhydrid	450 ml
Essigsäure	450 ml

in brauner Flasche in den Kühlschrank stellen, 130 ml konz. Schwefelsäure ebenfalls abkühlen lassen.

Nach dem Abkühlen läßt man tropfenweise unter dem Abzug die Schwefelsäure in das Essigsäure-Essigsäureanhydrid-Gemisch tropfen. Anschließend gibt man 120 g Toluol-

sulfon-säure hinzu, gut mischen.

Eichlösungen:

Die Eichlösungen werden aus Cholesterinsubstanz hergestellt, die mit Eisessig (96 %ig) aufgefüllt werden. Die Eichlösungen enthalten 50 mg %; 100 mg %; 150 mg %; 200 mg %; 250 mg %; 300 mg %; 400 mg % Cholesterin.

Ausführung:

Die Cholesterinbestimmung wurde mit einem Autoanalyzer der Fa. Technicon durchgeführt. Das Reagenz wird auf 55 ^{o} C vorgewärmt und mit dem Serum oder Plasma vermischt. Das Eiweiß wird durch den Zusatz von p-Toluolsulfonsäure in Lösung gehalten. Gemessen wird bei 625 nm und Blende 3. Die Extinktionen sind dem Extinktionsschreiber zu entnehmen. Aus den Eichmeßwerten wird eine Eichkurve auf Koordinatenpapier angelegt.

Berechnung: Aus der Extinktion des 200 mg % Wertes wird der Faktor (F) berechnet:

$$F = \frac{200}{0{,}412 \times 100} = 4{,}854$$

Sämtliche Extinktionen sind mit dem Faktor zu multiplizieren.

3.7 Gesamtprotein und Elektrophorese

3.7.1 Gesamtprotein

Lösungen

Biuret-Stammlösung

Kalium-Natrium-Tartrat		45 g
$CuSO_4 \times 5\ H_2O$		15 g
Kaliumjodid		5 g
0,2n NaOH	ad	1000 ml

Biuret-Verdünnungsflüssigkeit

Kaliumjodid		5 g
NaOH		8 g
Demineralisiertes Wasser	ad	1000 ml

Biuretgebrauchslösung

20 ml Stammlösung + 80 ml Verdünnungsflüssigkeit.

Ausführung:

	Analyse	Leerwert
ml Serum oder Überstand von Protamin-versetztem Heparin-Plasma	0,1	-
ml 0,9 % NaCl-Lösung	-	0,1
ml Biuretgebrauchslösung	5,0	5,0

Gut mischen und 30 min. bei Zimmertemperatur stehen lassen. 1-cm-Küvetten gegen Leerwert bei 546 nm photometrieren.

Berechnung: $\Delta E \times 184 = g/l$

3.7.2 Elektrophorese

Lösungen

0,048m Veronalpuffer pH 8,6

41,007 g Barbitalnatrium

\+ 7,341 g Barbital ad 5 l H_2O

Farblösung Ponceau-S

2 g pro Liter in 3 %iger Trichloressigsäure

Entfärbebad

5 %ige Essigsäure

Transparenzbad

Methanoleisessig (35 ml Eisessig ad 100 ml Methanol)

Geräte

Sartorius Membranfolien zur Elektrophorese (Typ SM 11200, 2,5 x 15 cm), Shandon-Elektrophoresekammer und Speisegerät, Camag-Elektrophoreseauftragsstempel in Wippenform, Zeiss-Extinktionsschreiber mit Grünfilter (520 nm).

Ausführung:

Die Papierstreifen werden einzeln in der Pufferlösung für ca. 5-10 min. eingeweicht, anschließend zwischen Filterpapier leicht abgetrocknet. 2 µl des Serums oder Überstandes von Protamin-versetztem Heparin-Plasma werden auf den Probenapplikator gebracht und dieses vorsichtig auf den Streifen gedrückt. Den Streifen sofort in die Kammer einlegen, so daß beide Enden in die Pufferlösung reichen. Die Laufzeit beträgt 45 min. bei 220 Volt.

Nach Beendigung der Laufzeit werden die Papierstreifen in die Ponceau-S-Farblösung für 10-15 min. gelegt, anschließend mehrmals in 5 %iger Essigsäure entfärbt und 30 sec. in Methanol entwässert. Die Streifen werden nun in Methanoleisessig gelegt bis sie völlig transparent sind (ca. 3 min.), auf Objektträger gezogen und 10 min. bei 65 ^{o} C getrocknet.
Die Auswertung erfolgt mit einem Extinktionsschreiber, der kontinuierlich photometriert und gleichzeitig integriert.

3.8 Statistischer Vergleich der Messwerte

3.8.1 Berechnung des Mittelwertes

Die Berechnung des arithmetischen Mittels $\bar{X}$ erfolgte nach

$$(1) \qquad \bar{X} = \frac{\sum X}{N}$$

N = Zahl der Messungen
X = Einzelmesswerte

3.8.2 Berechnung der Varianz und der Standardabweichung

Die mittlere quadratische Abweichung wird in der Statistik Varianz (S^2) genannt. Dabei handelt es sich genauer um das arithmetische Mittel der quadratischen Abweichungen der Werte von ihrem arithmetischen Mittelwert. Die Varianz berechnet sich nach der folgenden Formel:

$$(2) \qquad S^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}$$

Bei der Betrachtung, ob gleiche oder verschiedene Varianzen vorhanden waren, wurde folgende Formel angewandt:

(3) $$\frac{S_2^2}{S_1^2} \gtrless F\frac{N_2-1}{N_1-1}$$

Der Faktor F wurde den graphischen Tafeln von Koller, S., (1969) entnommen, er beträgt 3,2.
Bei gleicher Varianz ist

(3a) $$\frac{S_2^2}{S_1^2} < 3{,}2$$

Bei ungleicher Varianz

(3b) $$\frac{S_2^2}{S_1^2} > 3{,}2$$

Die Standardabweichung (S) ist ein Maß der Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert.

(4) $$S = \pm \sqrt{\frac{\sum (X-\bar{X})^2}{N-1}}$$

3.8.3 Prüfung der Nullhypothese

Die Prüfung von Hypothesen geschieht anhand der Berechnung des T-Wertes. Berücksichtigt man den jeweiligen Freiheitsgrad, so führt dies zu einer bestimmten prozentualen Wahrscheinlichkeit p.
Freiheitsgrad = $N_1 + N_2 - 2$, in unserem Fall beträgt er 18.
N_1 = Zahl der Messungen im Serum
N_2 = Zahl der Messungen im Plasma

Für die Bestimmung der Testgröße T gilt folgende Formel:

$$T = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{(N_1-1)S_1^2+(N_2-1)S_2^2}{N_1+N_2-2}\left(\frac{1}{N_1}+\frac{1}{N_2}\right)}} \qquad (5)$$

Wenn $N_1 = N_2$ ist, dann ergibt sich:

$$T = \frac{|\bar{X}_1-\bar{X}_2|\sqrt{N}}{\sqrt{S_1^2+S_2^2}} \qquad (6)$$

Die Zufallhöchstwerte der T-Werte wurden der Tafel 8 bei Renner entnommen.
Es wurde die Nullhypothese geprüft, ob die in Serum und Plasma gefundenen unterschiedlichen Mittelwerte um einen gemeinsamen Mittelwert schwanken. Ist die Testgröße T kleiner als 1,73 (bei Freiheitsgrad 18), so finden wir, daß die Nullhypothese bestätigt ist, d.h. es ist kein signifikanter Unterschied (K.S.) vorhanden.
Wenn die Testgröße $1{,}73 > T > 2{,}55$ ist, so ergibt sich ein p-Wert von 0,05 bzw. bei T größer als 2,55 ein p-Wert von $p = 0{,}01$.

4. Ergebnisse

4.1 Varianzprüfung

Im Serum und Plasma haben sich allgemein gleiche Varianzen ergeben.

4.2 Die optimale Menge an Lithiumheparinat

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, daß der Einsatz von 0,3 mg Lithiumheparinat pro 5 ml Blut die Gerinnung verhindern kann. Es bleibt sogar bei 0,15 mg Lithiumheparinatzusatz zu 5 ml Blut die Gerinnung aus, jedoch kann es zu einer Nachgerinnung kommen.

4.3 Versuchsergebnisse in Abhängigkeit von der Konzentration an Lithiumheparinat (0,25 - 5 mg/5 ml Blut)

In Tab. 1 a sind die Meßergebnisse der Enzyme aufgetragen. Es wurden für jeden O-mg-Wert fünf Messungen durchgeführt (N = 5), aus denen der Mittelwert nach Gleichung (1) (s. Abschnitt 3.8.1) und die Standardabweichungen nach Gleichung (4) (s. Abschnitt 3.8.2) berechnet wurden. Die Standardabweichungen der Mittelwerte sind in Tab. 1a-c neben den O-mg-Werten aufgeführt.

Bei der Alkalischen Phosphatase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, α-Hydroxy-Buttersäuredehydrogenase, Creatin-Phosphokinase und der α-Amylase sieht man deutlich, daß keine Hemmung der Aktivitäten dieser Enzyme vorliegt, selbst bei so hohen Konzentrationen wie 5 mg/5 ml Blut (s. Tab. 1 a).

Bei der Sauren Phosphatase kann man eine Hemmung durch das Lithiumheparinat bemerken und zwar in Abhänigkeit von der zugefügten Menge. Am deutlichsten ist der Aktivitätsverlust zwischen Serum und Plasma (mit 0,25 mg Lithiumheparinat pro 5 ml Blut), jedoch nimmt bei steigender Menge des Antikoagulans die Aktivität des Enzyms weiterhin ab (s.Tab. 1 a).

Bei der Untersuchung des Harnstoffs, des Kreatinins und der Harnsäure in Serum und Plasma (in Abhängigkeit von der Konzentration des Lithiumheparinats) sind keine unterschiedlichen Meßergebnisse festgestellt worden (s.Tab. 1 b).

Beim Gesamtbilirubin ist ebenfalls keine Beeinflussung

der Meßergebnisse durch das Lithiumheparinat zu bemerken. Beim Direkten Bilirubin liegt der 5-mg-Wert etwas niedriger als der im Serum gemessene Wert, jedoch ist diese Menge Lithiumheparinat erheblich höher als die optimale Menge, so daß dieses nicht von Bedeutung sein dürfte (s. Tab. 1 b).

Beim Calcium und Magnesium sind keine Unterschiede gefunden worden (s. Tab. 1 b).

Bei Chlorid und anorganischem Phosphat gibt es keine Änderung der Werte nach Lithiumheparinatzusatz (s. Tab. 1 c).

Zu einer deutlichen Abnahme der Meßwerte kommt es jedoch bei Kalium und Natrium. Beim Kalium beträgt die Abnahme ca. 0,2 mMol/l beim 0,25-mg-Wert, die bei höheren Konzentrationen konstant bleibt.

Die Natriumwerte sind im Lithiumheparinatplasma um ca. 3 mMol/l niedriger als im Serum. Diese Abnahme tritt beim 0,25-mg-Wert auf und bleibt bei allen Konzentrationen konstant (s.Tab. 1 c).

Bei den Triglyceriden gibt es keine Abweichung der Meßwerte in Lithiumheparinatplasma vom Serum. Beim Cholesterin scheint es eine leichte Verminderung zu geben, jedoch spricht der 1-mg-Wert dagegen (s.Tab. 1 c).

Die Bestimmung des Proteins ergab nach Zusatz von Protaminsulfat zu den verschiedenen Konzentrationen an Lithiumheparinat keine zu dem Serumwert unterschiedlichen Ergebnisse (s. Tab. 1 c).

4.4 Vergleich der Meßwerte in Lithiumheparinatplasma und Serum

Bei Betrachtung der Meßergebnisse ergibt sich bei folgenden Bestimmungen kein signifikanter Unterschied (K.S.), d.h. zwischen Serum und Plasma gibt es keine unterschiedlichen Meßergebnisse:

Alkalische Phosphatase (s. Tab. 2)
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (s. Tab. 3)
Glutamat-Pyruvat-Transaminase (s. Tab. 4)
α-Hydroxy-Buttersäuredehydrogenase (s. Tab. 5)
Creatin-Phosphokinase (s. Tab. 6)
α-Amylase (s. Tab. 7)
Harnstoff (s. Tab. 9)
Kreatinin (s. Tab. 10)
Harnsäure (s. Tab. 11)
Gesamtbilirubin (s. Tab. 12)
Direktes Bilirubin (s. Tab. 13)
Calcium (s. Tab. 14)
Magnesium (s. Tab. 15)
Chlorid (s. Tab. 16)
Anorganisches Phosphat (s. Tab. 17)
Triglyceride (s. Tab. 20)
Gesamteiweiß (s. Tab. 22)

Bei der Untersuchung des Kreatinins ergab sich bei Blut a ein $p < 0{,}01$, bei Blut b und c gab es keinen signifikanten Unterschied.

Die Elektrophorese ergab für Serum und mit Protaminsulfat versetztem Lithiumheparinatplasma die selben Kurvenbilder (s. Abb. 1-6).

Bei Auswertung der Kurven fanden sich in Serum und Lithiumheparinatplasma keine unterschiedlichen Ergebnisse. (s. Tab. 23).

Signifikante Unterschiede hingegen ergaben sich bei allen drei Proben bei der Bestimmung der Sauren Phosphatase. Die Hemmung ist auch von der Konzentration des Lithiumheparinats abhängig (s. Tab. 1 a). Die Nullhypothese ist hier mit $p < 0{,}01$ abgelehnt (s. Tab. 8). Bei der Untersuchung mit Ammoniumheparinat zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede (s. Tab. 26).

Abb. 1 Die Elektrophorese im Serum (Blut a)

Abb. 2 Die Elektrophorese im Lithium-Heparinatplasma (5 mg pro 5 ml Blut a) nach Zusatz von 10 mg Protaminsulfat pro 5 ml Blut

Abb. 3 Die Elektrophorese im Serum (Blut b)

Abb. 4 Die Elektrophorese im Lithium-Heparinatplasma (0,3 mg pro 5 ml Blut b) nach Zusatz von 10 mg Protaminsulfat pro 5 ml Blut

Abb. 5 Die Elektrophorese im Serum (Blut c)

Abb. 6 Die Elektrophorese im Lithium-Heparinatplasma (0, 3 mg pro 5 ml Blut c) nach Zusatz von 10 mg Protaminsulfat pro 5 ml Blut

Bei der Kalium- und Natriumbestimmung wird die Nullhypothese mit $p < 0{,}01$ bei beiden Bestimmungen für alle drei Blutproben abgelehnt. Die Kaliummeßergebnisse im Lithiumheparinatplasma liegen um ca 0,3 mMol/l niedriger als im Serum (s. Tab. 18). Bei der Untersuchung mit Ammoniumheparinat konnte dies nicht bestätigt werden (s. Tab. 24)

Die Natriumwerte im Plasma (mit 0,3 mg Lithiumheparinat pro 5 ml Blut) sind um 2,5 - 3,0 mMol/l niedriger als im Serum (s. Tab. 19). Auch hier konnten diese niedrigeren Werte bei der Untersuchung mit Ammoniumheparinat nicht festgestellt werden (s. Tab. 25).

Die Bestimmung des Cholesterins ergab bei Verwendung von Lithiumheparinat als Antikoagulans im Plasma ebenfalls niedrigere Werte als im Serum. Für alle drei Blutproben ergab sich ein $p < 0{,}01$ (s. Tab. 21).

Die Messung der Cholesterinwerte mit Ammoniumheparinat hat dies nicht ergeben (s. Tab. 27).

5. Diskussion

Beim Betrachten der Versuchsergebnisse ist festzustellen, daß die meisten der wichtigen Laboruntersuchungen im Lithiumheparinatplasma durchführbar sind, ohne daß sich die im Plasma gemessenen Werte von den Serumwerten signifikant unterscheiden.

Die Elektrophorese ist mit Protaminsulfat- versetztem Lithiumheparinatplasma nach Abzentrifugieren des Koagulums möglich, jedoch zeigten sich mitunter im β - Bereich und γ - Bereich kleine zusätzliche Zacken, die im Serum nicht auftraten. Der

Gesamtkurvenverlauf wurde dadurch nicht wesentlich beeinflußt. Zentrifugieren bei höheren Drehzahlen bis 10000 U/min erbrachte keine Veränderung des Kurvenbildes.

Die Saure Phosphatase wird durch das Lithiumheparinat deutlich gehemmt. In der Literatur (Richterich,R.) wurde beschrieben, daß bei Anwendung eines Antikoagulans eine geringere Aktivität dieses Enzyms gemessen wird. Man vermutete, daß die Saure Phosphatase beim Gerinnungsvorgang aus den Erythrocyten, die Saure Phosphatase in höherer Konzentration als Serum enthalten, frei wird und dadurch höhere Werte resultieren, während Plasma in der Regel einen kleineren Hämolysefehler zeigt. Diese Ansicht ist nach unseren Befunden falsch, weil eine Abhängigkeit der Aktivität der Sauren Phosphatase von der Konzentration an Heparin besteht. Die Normalwerte der Sauren Phosphatase müssen hiernach neu bestimmt werden, wobei die Menge des Antikoagulans-Zusatzes konstant sein muß.

Die Natrium- und Kaliumwerte werden durch Lithiumheparinatzusatz beeinflußt.
Die Messung dieser Elektrolyte erfolgte mit dem Il-Flammenphotometer 143 unter Verwenden eines Lithiumstandards als Referenzspektrum. Die Lithiummenge im Plasma beeinflußt die Intensität des Referenzspektrums offensichtlich deutlich und bewirkt damit eine falsche Ablesung der Elektrolytkonzentration.
Durch Verwenden von Ammoniumheparinatplasma wird die Messung von Natrium und Kalium mit dem Il-Flammenphotometer gegen ein Lithiumreferenzspektrum nicht gestört. Daher bieten sich für die Elektrolytbestimmung entweder die Definition neuer Normalwerte oder die

Verwendung von Ammoniumheparinat als Antikoagulans an.

Die Cholesterinwerte sind im Lithiumheparinatplasma niedriger als im Serum. Im Ammoniumheparinatplasma sind sie gleich hoch wie im Serum. Die Cholesterinbestimmung wäre entweder unter Verwenden von Ammoniumheparinatplasma durchzuführen oder für Lithiumheparinatplasma müßten neue Normalwerte definiert werden.

Lithiumheparinatzusatz scheint die Kreatininbestimmung nicht systematisch zu beeinflussen. Will man sicher gehen, sei auch hierbei das Festlegen eines neuen Normalbereiches empfohlen.

Grundsätzlich eignen sich Lithium- und Ammoniumheparinat als Zusatz zur Gewinnung von Plasma, das zu klinisch-chemischen Analysen verwendet wird.

Ammoniumheparinatzusatz ist günstiger als Lithiumheparinatzusatz, da dieses Antikoagulans die Elektrolyte und das Cholesterin nicht beeinflußt. Es müßten lediglich neue Normalwerte für die Saure Phosphatase bestimmt werden. Zur Ammoniumbestimmung könnte Ammoniumheparinatplasma nicht verwendet werden. Das ist aber ohne Bedeutung, weil das Blut für diese Bestimmung gesondert abgenommen werden muß, und es eine relativ seltene Bestimmung ist. Zur Glucosebestimmung wird weiterhin Fluoridplasma benutzt werden müssen, für die Gerinnungsteste Citratplasma und für die Blutzellzählung ÄDTE-Plasma.

6. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde ein Vergleich der wichtigsten klinisch-chemischen Analysen in Lithiumheparinatplasma, Ammoniumheparinatplasma und Serum durchgeführt.

0,6 mg Lithiumheparinat machen 10 ml Blut ohne Nachgerinnung ungerinnbar. Weiterhin wurde gefunden, daß die meisten der durchgeführten Laboruntersuchungen in Lithiumheparinatplasma möglich sind, d.h., daß es keine vom Serum abweichenden Meßergebnisse gibt, mit Ausnahme des Kaliums, Natriums, Cholesterins und der Sauren Phosphatase.
Proteinbestimmung und Elektrophorese sind nach Zusatz von 10 mg Protaminsulfat und Zentrifugation durchführbar.

Ammoniumheparinat eignet sich am besten als Antikoagulans, da hierbei die Elektrolyt- und die Cholesterinbestimmung unbeeinflußt bleiben. Es müssen dann nur für die Saure Phosphatase neue Normalwerte definiert werden.

Tab. 1a Klinisch-chemische Untersuchungen unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen an Lithium-Heparinat im Blut (5 ml Blut)

Li.-Hep. mg/5ml Blut	Alkalische Phosphatase (U/l)	Glutamat-Oxalacetat Transaminase (U/l)	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (U/l)	α-Hydroxybuttersäure-dehydrogenase (U/l)	Creatinphosphokinase (U/l)	α-Amylase (U/l)	Saure Phosphatase (U/l)
5,0	110	24	26	176	82	87	4,7
2,5	107	26	28	176	87	89	5,0
1,0	107	24	26	168	91	88	5,6
0,5	104	24	27	168	82	89	6,1
0,25	101	25	28	176	91	89	6,5
0,0	107 ±5,0	24 ±2,4	27 ±2,0	168 ±10,5	87 ±9,0	88 ±2,6	7,9 ±0,2

Tab. 1b Klinisch-chemische Untersuchungen unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen an Lithium-Heparinat im Blut (5 ml Blut)

Li.-Hep. mg/5ml Blut	Harnstoff (g/l)	Kreatinin (mg/l)	Harnsäure (mg/l)	Gesamt-bilirubin (mg/l)	Direktes Bilirubin (mg/l)	Calcium (mMol/l)	Magnesium (mMol/l)
5,0	0,24	10,7	48	5,1	3,7	2,8	0,65
2,5	0,25	10,9	46	5,2	4,3	2,8	0,66
1,0	0,26	10,6	43	5,4	3,7	2,8	0,68
0,5	0,25	10,8	46	5,4	3,9	2,7	0,65
0,25	0,24	10,8	47	5,3	4,1	2,8	0,64
0,0	0,24 ±0,01	10,8 ±0,1	47 ±2,7	5,2 ±0,2	4,2 ±0,3	2,8 ±0,04	0,65 ±0,01

Tab. 1c Klinisch-chemische Untersuchungen unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen an Lithium-Heparinat im Blut (5 ml Blut)

Li.-Hep. mg/5ml Blut	Chlorid (mMol/l)	Phosphat (mMol/l)	Kalium (mMol/l)	Natrium (mMol/l)	Triglyceride (g/l)	Cholesterin (g/l)	Gesamteiweiß (g/l)
5,0	101	1,30	3,60	130,5	0,82	2,32	77,7
2,5	103	1,35	3,60	131,5	0,82	2,32	78,1
1,0	102	1,33	3,65	131,5	0,87	2,39	77,5
0,5	103	1,32	3,60	131,0	0,77	2,33	78,1
0,25	102	1,26	3,63	132,0	0,79	2,34	77,8
0,0	102 ±1,3	1,34 ±0,02	3,80 ±0,02	134,5 ±0,4	0,85 ±0,06	2,39 ±0,04	78,0 ±0,7

Tab. 2 Bestimmung der Aktivität der Alkalischen Phosphatase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	93	93	137	131	82	87
	93	82	136	142	82	87
	98	93	131	131	71	76
	93	93	126	120	76	76
	87	87	131	126	82	87
	98	87	137	131	76	82
	87	105	109	126	76	82
	93	93	137	131	82	82
	104	87	126	131	87	82
	93	87	131	125	76	82
MW	93,9	90,7	130,2	129,4	79,0	82,3
s	±5,1	±6,3	±8,6	±5,8	±4,6	±4,0
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 3 Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	43	41	23	21	34	34
	41	43	19	26	38	34
	39	41	19	23	34	36
	39	39	21	19	34	34
	41	39	19	21	36	36
	41	38	26	19	34	32
	43	41	19	21	32	34
	41	38	21	19	34	36
	41	39	21	23	36	36
	39	39	23	21	34	34
MW	40,8	39,8	21,1	21,3	34,6	34,6
s	±1,4	±1,6	±2,3	±2,2	±1,6	±1,6
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 4 Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Pyruvat-Transaminase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	19	21	56	55	26	26
	23	23	58	58	28	28
	23	21	56	55	26	30
	19	21	58	56	26	26
	26	24	60	56	26	26
	21	23	56	58	24	28
	23	21	56	56	28	24
	23	19	56	60	28	24
	23	21	58	56	26	26
	24	23	55	55	26	26
MW	22,4	22,7	56,9	56,5	26,4	26,4
s	±2,1	±2,4	±1,5	±1,6	±1,2	±1,8
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 5 Bestimmung der Aktivität der α-Hydroxy-Buttersäure-dehydrogenase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	96	80	192	144	240	240
	64	80	144	176	240	240
	80	80	176	176	256	256
	80	96	144	160	224	224
	64	63	192	144	224	224
	96	96	144	192	240	240
	112	96	192	176	240	208
	64	80	176	160	224	208
	96	80	160	192	256	224
	80	96	176	176	192	240
MW	83,2	84,8	169,6	169,6	233,6	230,4
s	±16,5	±10,8	±20,2	±17,2	±18,7	±15,5
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 6 Bestimmung der Aktivität der Creatin-Phospho-Kinase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	313	297	115	124	74	82
	297	280	124	116	91	91
	280	280	132	132	82	91
	297	280	124	124	82	82
	297	264	132	124	82	91
	280	305	124	124	91	99
	280	280	124	124	107	91
	280	297	140	132	91	82
	247	280	124	132	82	99
	280	280	132	148	82	82
MW	285,1	284,3	127,1	128,0	86,4	89,0
s	±17,6	±11,8	±6,9	±8,9	±9,0	±6,7
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 7 Bestimmung der Aktivität der α-Amylase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	87	90	148	148	63	65
	92	87	137	143	65	69
	89	87	153	153	63	67
	85	89	153	148	65	61
	92	85	148	143	65	58
	90	88	148	148	58	58
	87	89	153	153	63	63
	92	87	153	153	58	65
	87	85	148	148	63	63
	92	90	148	143	69	63
MW	89,3	87,7	148,9	148,0	63,2	63,2
s	±2,6	±1,8	±4,8	±4,0	±3,3	±3,5
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 8 Bestimmung der Aktivität der Sauren Phosphatase in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)		Blut c (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	7,5	5,9	10,7	9,1	8,5	7,2
	7,9	6,1	10,7	8,9	8,4	6,8
	8,0	5,8	11,1	9,2	9,1	7,0
	7,6	5,9	10,8	8,9	8,7	7,1
	7,7	5,6	11,1	9,0	8,6	7,3
	7,9	6,0	11,1	8,5	8,8	6,4
	8,2	6,4	11,2	8,7	9,0	7,2
	7,5	5,8	11,0	8,9	8,9	6,8
	7,6	6,0	11,1	8,4	8,4	7,0
	7,8	6,1	10,9	8,7	8,7	7,2
MW	7,77	5,96	10,97	8,93	8,71	7,0
s	±0,23	±0,21	±0,18	±0,25	±0,24	±0,27
	$p < 0,01$		$p < 0,01$		$p < 0,01$	

Tab. 9 Bestimmung des Harnstoffs in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (g/l)		Blut b (g/l)		Blut c (g/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	0,37	0,40	0,19	0,19	0,24	0,24
	0,36	0,36	0,20	0,21	0,25	0,24
	0,36	0,36	0,20	0,20	0,24	0,24
	0,36	0,37	0,21	0,19	0,27	0,25
	0,35	0,37	0,19	0,19	0,24	0,25
	0,36	0,35	0,21	0,21	0,27	0,24
	0,36	0,36	0,21	0,19	0,25	0,25
	0,37	0,35	0,21	0,24	0,25	0,25
	0,36	0,36	0,21	0,19	0,25	0,24
	0,37	0,36	0,19	0,25	0,24	0,25
MW	0,362	0,364	0,202	0,206	0,250	0,247
s	±0,006	±0,014	±0,009	±0,022	±0,011	±0,005
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 10 Bestimmung des Kreatinins in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mg/l)		Blut b (mg/l)		Blut c (mg/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	10,7	10,7	13,2	13,1	9,8	9,6
	10,7	10,1	13,2	13,3	9,8	9,8
	10,8	10,2	13,3	13,0	9,8	9,6
	10,9	10,6	13,0	13,1	9,6	9,6
	10,7	10,7	13,2	13,1	9,8	9,8
	10,7	10,2	13,2	13,0	9,9	9,9
	10,6	10,2	13,3	13,4	9,6	9,7
	10,4	10,3	13,4	13,0	9,6	9,7
	10,8	10,4	13,0	13,1	9,8	9,7
	10,7	10,7	13,1	13,3	9,8	9,6
MW	10,7	10,4	13,2	13,1	9,8	9,7
s	±0,13	±0,24	±0,12	±0,14	±0,11	±0,11
	p<0,01		K.S.		K.S.	

Tab.11 Bestimmung der Harnsäure in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mg/l)		Blut b (mg/l)		Blut c (mg/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	81,9	78,6	45,9	47,5	33,6	30,3
	77,0	83,5	47,5	47,5	33,6	34,4
	78,7	76,9	45,9	49,1	36,9	31,9
	78,6	81,1	48,3	47,5	31,1	36,9
	81,9	80,3	40,1	45,9	35,2	38,5
	80,3	73,7	42,6	40,1	33,6	36,0
	78,6	74,5	47,5	50,8	37,7	34,4
	77,0	77,0	47,5	51,6	33,6	36,0
	77,0	77,0	45,9	42,6	32,8	36,9
	73,6	80,3	48,3	42,6	36,0	35,2
MW	78,5	79,1	45,9	46,5	34,4	35,1
s	±3,1	±3,2	±2,7	±3,7	±2,0	±2,4
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 12 Bestimmung des Gesamtbilirubins in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mg/l)		Blut b (mg/l)		Blut c (mg/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	4,1	4,3	5,0	4,9	7,2	7,2
	4,2	4,0	5,0	5,3	7,2	7,3
	4,1	4,0	5,3	5,7	6,9	6,9
	4,1	4,1	5,4	5,3	6,6	6,5
	4,0	4,0	5,6	5,4	6,7	7,1
	3,6	4,3	5,1	5,0	6,8	7,2
	3,8	4,1	5,3	5,2	6,9	7,2
	4,0	3,8	5,4	5,7	7,0	6,8
	3,8	4,1	5,6	5,5	7,0	6,8
	4,0	4,1	5,2	5,3	7,1	7,1
MW	3,96	4,08	5,29	5,33	6,94	7,01
s	±0,19	±0,15	±0,22	±0,26	±0,20	±0,25
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 13 Bestimmung des Direkten Bilirubins in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mg/l)		Blut b (mg/l)		Blut c (mg/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	1,9	2,4	3,7	3,7	1,7	2,1
	2,1	2,2	3,7	3,7	2,0	2,4
	2,2	2,3	4,0	3,7	2,2	2,3
	2,2	1,8	4,0	4,1	1,9	2,0
	2,4	2,2	4,3	3,9	2,4	1,7
	2,3	1,9	4,2	4,5	2,2	2,1
	2,2	2,5	4,2	4,1	1,5	2,2
	2,0	2,3	4,3	3,7	2,0	2,1
	2,2	2,0	4,2	4,0	2,0	2,2
	2,4	2,2	4,1	3,8	2,1	1,9
MW	2,19	2,18	4,06	3,92	2,00	2,10
s	±0,16	±0,22	±0,21	±0,26	±0,25	±0,20
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 14 Bestimmung des Calciums in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)		Blut c (mMol/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	2,3	2,3	2,2	2,2	2,7	2,7
	2,3	2,3	2,2	2,2	2,7	2,8
	2,3	2,3	2,1	2,2	2,8	2,7
	2,3	2,3	2,2	2,3	2,8	2,8
	2,3	2,2	2,2	2,3	2,8	2,8
	2,2	2,3	2,1	2,2	2,7	2,7
	2,2	2,3	2,1	2,2	2,8	2,7
	2,3	2,3	2,2	2,2	2,8	2,8
	2,3	2,3	2,2	2,2	2,8	2,8
	2,2	2,3	2,2	2,3	2,7	2,8
MW	2,27	2,29	2,17	2,22	2,76	2,75
s	±0,048	±0,032	±0,048	±0,042	±0,051	±0,051
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 15 Bestimmung des Magnesiums in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)		Blut c (mMol/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	0,78	0,80	0,84	0,85	0,64	0,66
	0,80	0,80	0,84	0,84	0,65	0,65
	0,80	0,80	0,84	0,83	0,67	0,63
	0,80	0,78	0,84	0,83	0,64	0,64
	0,80	0,80	0,85	0,83	0,64	0,65
	0,79	0,81	0,86	0,82	0,65	0,67
	0,78	0,79	0,84	0,85	0,67	0,65
	0,78	0,78	0,83	0,84	0,65	0,63
	0,80	0,78	0,84	0,84	0,64	0,65
	0,79	0,79	0,83	0,84	0,63	0,63
MW	0,79	0,79	0,84	0,84	0,65	0,65
s	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab.16 Bestimmung des Chlorids in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)		Blut c (mMol/l)	
Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
95	89	100	101	98	99
95	97	102	101	100	100
94	96	102	102	99	99
97	95	104	101	101	100
95	95	102	106	100	101
98	94	102	102	100	99
97	92	103	102	99	100
96	94	104	101	98	100
98	95	101	104	101	101
94	96	101	101	100	98
MW 95,8	94,3	102,1	102,1	99,6	99,9
s ±1,6	±2,3	±1,3	±1,7	±1,1	±1,0
K.S.		K.S.		K.S.	

Tab.17 Bestimmung des anorganischen Phosphats in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)		Blut c (mMol/l)	
Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
1,08	1,06	1,25	1,25	0,89	0,91
1,06	1,04	1,26	1,25	0,91	0,91
1,06	1,06	1,30	1,26	0,87	0,89
1,08	1,09	1,30	1,22	0,89	0,87
1,09	1,08	1,25	1,25	0,89	0,89
1,04	1,08	1,26	1,26	0,89	0,89
1,06	1,06	1,25	1,25	0,88	0,88
1,06	1,04	1,26	1,25	0,87	0,87
1,08	1,08	1,26	1,26	0,89	0,89
1,06	1,06	1,25	1,25	0,91	0,89
MW 1,07	1,06	1,26	1,25	0,89	0,89
s ±0,015	±0,021	±0,020	±0,015	±0,06	±0,038
K.S.		K.S.		K.S.	

Tab.18 Bestimmung des Kaliums in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)		Blut c (mMol/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	4,85	4,50	2,65	2,50	4,10	3,80
	4,85	4,50	2,70	2,50	4,15	3,75
	4,85	4,50	2,70	2,50	4,10	3,80
	4,85	4,55	2,70	2,55	4,10	3,80
	4,80	4,55	2,70	2,55	4,10	3,80
	4,80	4,50	2,65	2,50	4,15	3,80
	4,85	4,50	2,70	2,50	4,15	3,75
	4,85	4,55	2,65	2,50	4,10	3,80
	4,80	4,50	2,70	2,55	4,10	3,85
	4,85	4,50	2,70	2,50	4,10	3,80
MW	4,84	4,52	2,69	2,53	4,12	3,80
s	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02
	P < 0,01		P < 0,01		P < 0,01	

Tab.19 Bestimmung des Natriums in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)		Blut c (mMol/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	140,0	138,5	142,0	140,5	134,5	132,0
	140,5	137,5	142,0	140,0	134,5	132,0
	141,0	138,0	142,0	140,0	134,0	132,0
	141,0	137,5	142,0	140,0	134,0	131,0
	140,5	137,5	142,0	140,0	134,5	131,5
	141,5	136,5	142,5	140,5	135,0	131,0
	141,0	137,5	143,0	139,5	134,5	132,0
	140,5	137,5	142,0	140,0	134,0	132,0
	140,5	138,0	142,5	140,5	134,5	132,5
	141,0	137,5	142,0	139,5	134,5	131,5
MW	140,7	137,6	142,4	140,0	134,4	131,8
s	±0,4	±0,9	±0,4	±0,4	±0,3	±0,4
	P < 0,01		P < 0,01		P < 0,01	

Tab. 20 Bestimmung der Triglyceride in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (g/l)		Blut b (g/l)		Blut c (g/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	0,88	0,82	1,81	1,78	1,30	1,35
	0,83	0,77	1,84	1,67	1,35	1,28
	0,79	0,73	1,80	1,75	1,32	1,25
	0,92	0,78	1,75	1,67	1,38	1,27
	0,77	0,80	1,74	1,76	1,28	1,30
	0,80	0,83	1,69	1,75	1,25	1,17
	0,83	0,77	1,75	1,80	1,32	1,32
	0,78	0,75	1,70	1,69	1,33	1,25
	0,75	0,78	1,80	1,75	1,38	1,28
	0,75	0,78	1,73	1,70	1,31	1,32
MW	0,81	0,78	1,76	1,73	1,32	1,28
s	±0,05	±0,04	±0,05	±0,05	±0,04	±0,06
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab. 21 Bestimmung des Cholesterins in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (g/l)		Blut b (g/l)		Blut c (g/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	2,29	2,22	1,42	1,34	2,44	2,36
	2,30	2,25	1,42	1,34	2,41	2,34
	2,30	2,22	1,44	1,30	2,44	2,30
	2,27	2,25	1,38	1,38	2,48	2,32
	2,25	2,23	1,34	1,35	2,45	2,34
	2,29	2,21	1,41	1,40	2,44	2,36
	2,31	2,22	1,42	1,31	2,40	2,43
	2,28	2,28	1,43	1,32	2,43	2,38
	2,28	2,22	1,42	1,32	2,43	2,32
	2,27	2,22	1,35	1,29	2,40	2,36
MW	2,29	2,23	1,40	1,34	2,43	2,34
s	±0,04	±0,05	±0,03	±0,03	±0,02	±0,03
	p<0,01		p<0,01		p<0,01	

Tab. 22 Bestimmung des Gesamteiweiß in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut) + 10 mg Protaminsulfat pro 5 ml Blut

	Blut a (g/l)		Blut b (g/l)		Blut c (g/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	69,0	68,1	63,5	65,3	80,8	79,3
	68,4	67,2	64,4	65,3	81,0	81,1
	67,7	66,2	64,4	64,4	80,0	80,0
	69,0	68,1	64,8	65,3	79,9	79,2
	67,2	67,3	64,4	64,0	80,8	79,9
	67,2	67,2	64,4	64,4	80,8	80,0
	67,3	67,2	64,0	65,3	79,1	79,1
	67,8	67,2	64,4	64,0	80,0	80,0
	67,2	67,2	65,7	64,8	79,5	81,0
	69,0	68,4	64,4	64,0	80,8	79,5
MW	67,9	67,4	64,4	64,7	80,3	79,9
s	±0,81	±0,64	±0,56	±0,59	±0,66	±0,71
	K.S.		K.S.		K.S.	

Tab.23 Bestimmung der Elektrophorese in Serum und Lithium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

Blut a										Blut b									
Serum					Plasma					Serum					Plasma				
Albumine (%)	Globuline (%)				Albumine (%)	Globuline (%)				Albumine (%)	Globuline (%)				Albumine (%)	Globuline (%)			
	α_1	α_2	β	γ		α_1	α_2	β	γ		α_1	α_2	β	γ		α_1	α_2	β	γ
40	3	12	17	28	39	4	12	16	29	47	4	7	9	33	45	3	7	8	37
39	4	13	16	28	40	4	11	15	30	44	4	8	8	36	46	4	7	10	33
40	4	11	17	28	41	4	11	16	28	46	3	8	9	34	48	3	7	9	33
39	4	12	16	29	39	5	12	16	29	44	5	9	8	34	44	4	7	10	35
38	4	13	16	29	40	4	13	15	28	45	4	8	8	35	44	5	8	9	34

Tab.24 Bestimmung des Kaliums in Serum und Ammonium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	4,20	4,20	4,45	4,35
	4,20	4,20	4,45	4,35
	4,20	4,20	4,45	4,40
	4,15	4,20	4,35	4,40
	4,15	4,15	4,40	4,45
	4,15	4,15	4,40	4,40
	4,20	4,20	4,40	4,45
	4,20	4,20	4,35	4,45
	4,20	4,15	4,45	4,40
	4,15	4,20	4,40	4,40
MW	4,18	4,19	4,41	4,41
s	±0,02	±0,02	±0,04	±0,04
	K.S.		K.S.	

Tab.25 Bestimmung des Natriums in Serum und Ammonium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (mMol/l)		Blut b (mMol/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	139,0	139,0	142,0	141,5
	138,0	138,5	142,0	141,0
	139,0	139,0	141,5	141,5
	138,5	139,0	142,0	141,0
	138,5	139,0	141,5	141,5
	139,5	139,0	141,5	141,5
	138,5	139,0	141,5	142,0
	138,5	138,5	141,0	141,0
	138,0	139,5	142,0	141,0
	139,0	139,5	141,5	141,5
MW	138,7	138,9	141,7	141,3
s	±0,42	±0,34	±0,26	±0,34
	K.S.		K.S.	

Tab.26 Bestimmung der Sauren Phosphatase in Serum und Ammonium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (U/l)		Blut b (U/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	7,0	6,0	9,9	7,7
	7,0	5,8	9,3	7,5
	7,0	5,8	9,7	7,8
	7,2	5,5	9,4	7,6
	6,9	5,5	9,7	7,6
	7,3	5,6	9,7	7,0
	7,4	6,1	9,7	7,4
	7,2	5,6	9,4	7,8
	7,5	5,5	9,5	7,7
	7,3	5,9	9,5	7,5
MW	7,18	5,73	9,58	7,56
s	±0,20	±0,22	±0,19	±0,23
	p<0,01		p<0,01	

Tab.27 Bestimmung des Cholesterins in Serum und Ammonium-Heparinat-Plasma (0,3 mg pro 5 ml Blut)

	Blut a (g/l)		Blut b (g/l)	
	Serum	Plasma	Serum	Plasma
	1,44	1,44	1,90	1,88
	1,44	1,43	1,92	1,90
	1,45	1,42	1,88	1,89
	1,46	1,43	1,91	1,92
	1,48	1,45	1,91	1,92
	1,44	1,45	1,89	1,89
	1,45	1,44	1,92	1,86
	1,47	1,42	1,90	1,92
	1,45	1,44	1,94	1,90
	1,44	1,47	1,89	1,90
MW	1,45	1,44	1,91	1,90
s	±0,014	±0,015	±0,018	±0,019
	K.S.		K.S.	

Literaturverzeichnis

1. Dulce, H.J. — Klinisch-chemische Diagnostik. Verlag Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien (1970)

2. Fishman, W.H. Lerner, F. — A method for estimating serum acid phosphatase of prostatic origin. J. biol. chem. 200 (1953) 89

3. Fuchs,G. — Mathematik für Mediziner und Biologen. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1969)

4. Hess, B. — Plasmaenzyme. G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1964)

5. Jendrassik, L. Grof, P. — Verfahren zur photometrischen Bestimmung des Bilirubins im Harn. Biochem. Z. 289 (1938) 71

6. Karmen, A. Wroblewski, F. La Due, J.S. — Transaminase activity in human blood. J. clin. Invest. 34 (1955) 126

7. Oliver, I.T. — A spectrophotometric method for the determination of creatin-phosphokinase and myokinase. Biochem. J. 61 (1956) 116-122

8. Renner, E. Mathematische Statistik in der praktischen Anwendung. Parey-Verlag, Berlin-Hamburg (1970)

9. Richterich, R. Klinische Chemie. Akademische Verlagsanstalt, Frankfurt (1968)

10. Street, H.V. Close, J.R. Serum amylase activity: normal values. Nature, London 179 (1957) 164

11. Wroblewski, F. La Due, J.S. Serum glutamatic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Exp. Biol. Med. 91 (1956) 569-571

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Klinische Chemie und Biochemie der Freien Universität Berlin fertiggestellt.
Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Hans-Joachim Dulce, der die Anregung zu dieser Doktorarbeit gab und durch Beratung und Unterstützung ihre Ausführung ermöglichte.
Für die Bereitstellung der Blutproben sei den Assistenten der Inneren Abteilung am Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin hiermit herzlich gedankt.

Lebenslauf

Am 8.5.1943 wurde ich als erstes Kind des Volksschullehrers Helmut Stender und seiner Ehefrau Herta geb. Veenis in Berlinchen/Brandenburg geboren. Im Frühjahr 1950 wurde ich in Wendessen/Kreis Wolfenbüttel eingeschult. Am neusprachlichen Zweig der Anna-Vorwerk-Schule in Wolfenbüttel legte ich im März 1964 die Reifeprüfung ab.
Im Wintersemester 1964/65 immatrikulierte ich an der Freien Universität Berlin, wo ich im August 1965 das Vorphysikum und im August 1967 das Physikum ablegte. Im Dezember 1970 bestand ich das Staatsexamen an der Freien Universität Berlin.
Vier Monate meiner Medizinalassistentenzeit verbrachte ich am Institut für klinische Chemie im Klinikum Steglitz der Freien Universität.

B. Ladewig · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 Pestalozzistraße 106
Tel.: 312 88 85 - 313 81 98